

Untersuchungen zur Chemotherapie und
Chemoprophylaxe der Trypanosoma
evansi-Infektion (Stamm Bali)
bei der Maus

JOSEF HARANT

1970

Aus dem Institut für Vergleichende Tropenmedizin
und Parasitologie des Fachbereiches Tiermedizin
der Universität München
Vorstand: Prof. Dr. Dr. h. c. J. Boch
Angefertigt unter Leitung von Prof. Dr. H. K. Dennig

Untersuchungen zur Chemotherapie und
Chemoprophylaxe der Trypanosoma
evansi-Infektion (Stamm Bali)
bei der Maus

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
des Fachbereichs Tiermedizin
der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
JOSEF HARANT
aus
Iggersbach

München 1978



Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Tiermedizin
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. H. Kräußlich
Referent: Prof. Dr. H. K. Dennig
Korreferent: Prof. Dr. Dr. h. c. A. Mayr
Tag der Promotion: 24. Februar 1978

INHALTSÜBERSICHT

	Seite
I. Einleitung	1
II. Chemotherapie und Chemoprophylaxe der Trypanosoma evansi-Infektion mit Berenil ^R und Trypamidium ^R (anhand der Literatur)	2
III. Eigene Untersuchungen	10
A. Material und Methoden	10
B. Ergebnisse	13
1. Vorversuche	13
2. Untersuchungen zum Verlauf der Trypanosoma evansi-Infektion nach Behandlung mit Berenil ^R bei unterschiedlicher Parasitendichte	14
3. Chemotherapie und Chemoprophylaxe mit Berenil ^R	17
4. Chemotherapie und Chemoprophylaxe mit Trypamidium ^R	26
IV. Besprechung der Ergebnisse	33
V. Zusammenfassung	42
Summary	43
VI. Literaturverzeichnis	44
Lebenslauf	

I. EINLEITUNG

Trypanosoma evansi verursacht bei Haus- und Wildtieren die unter der Bezeichnung SURRA bekannte Erkrankung. Sie ist weit verbreitet in Nord-Afrika, Teilen Süd- und Mittelamerikas und im asiatischen Raum, in dem ihr die größte Bedeutung zukommt. Die Infektion kann besonders bei Pferden, Dromedaren, Rindern und Wasserbüffeln zu beträchtlichen wirtschaftlichen Verlusten führen.

Die Seuche wird hauptsächlich durch Behandlung erkrankter Tiere bekämpft. Über die Chemoprophylaxe der Surra ist wenig bekannt, ebenso über die Bekämpfung der Vektoren. Methoden einer wirksamen Vakzinierung unter Feldbedingungen wurden bislang nicht entwickelt. Für die Behandlung der Trypanosoma evansi-Infektion stehen eine Reihe trypanozider Verbindungen zur Verfügung, die sich in erster Linie bei der afrikanischen Trypanosomiasis der Haustiere gut bewährt haben. Systematische Untersuchungen dieser Präparate im Hinblick auf ihre therapeutische und prophylaktische Wirkung gegen den Erreger der Surra liegen in nur sehr begrenzter Anzahl vor.

Die vorliegende Arbeit hat das Ziel, am Modell der weißen Maus die Chemotherapeutika Berenil^R und Trypamidum^R hinsichtlich ihrer therapeutischen und prophylaktischen Wirksamkeit gegen Trypanosoma evansi zu untersuchen.

II. CHEMOTHERAPIE UND CHEMOPROPHYLAXE DER TRYPANOSOMA EVANSI-INFEKTION MIT BERENIL UND TRYPAMIDIUM (anhand der Literatur)

Berenil gehört chemisch zur Gruppe der Diamidine (4-4'-diamidino-diazoaminobenzol-diaceturat) und zeichnet sich durch eine hohe babesizide und trypanozide Wirkung aus. Das Präparat hat sich besonders gegen die Erreger der afrikanischen Trypanosomiasis bewährt. FUSSGÄNGER und BAUER (1958) berichten erstmals zusammenfassend über die Wirksamkeit von Berenil gegen die verschiedenen Blutprotozoen der Haustiere. Die Autoren heben dabei die gute trypanozide Wirkung gegen *T. congolense*, *T. brucei* und *T. gambiense* hervor, Beobachtungen, die später auch von anderen Verfassern gemacht wurden (WILLIAMSON, 1970; RAETHER, 1973; TOURE, 1973). Eine Wirksamkeit des Präparates gegenüber *T. evansi* wird nicht erwähnt. Daneben berichten die Autoren ausführlich über die metabolistischen Mechanismen von Berenil. Danach wird die Verbindung größtenteils innerhalb der ersten 24 Stunden nach Verabreichung abgebaut und renal ausgeschieden. Die Verfasser schreiben dem Präparat aufgrund dieser schnellen Elimination eine nur schwache prophylaktische Wirksamkeit zu.

Auch WILLIAMSON (1962) führt die fehlende prophylaktische Wirkung auf die rasche Ausscheidung der Verbindung zurück. Er begründet das Fehlen Berenil-resistenter Trypanosomen-Stämme damit, daß aufgrund der schnellen Elimination die Möglichkeit zur Adaptation des Parasiten an das Chemotherapeutikum fehlt.

Über die chemotherapeutische Wirksamkeit von Berenil gegen Trypanosomen liegen mehrere Übersichtsarbeiten vor. FINELLE (1973 a) gibt einen umfassenden Überblick über die Chemotherapie der afrikanischen Trypanosomiasis bei Haustieren. Dabei wird für Berenil in der Dosierung von 3,5 mg/kg Kgw. eine sehr gute Wirksamkeit gegen *T. congolense* und *T. vivax* angegeben. Dagegen wird seine Wirkung gegen *T. brucei*

und *T. evansi* als weniger zuverlässig bezeichnet. Ähnliche Angaben finden sich in den Arbeiten von BAUER (1955), WILLIAMSON (1970), RAETHER (1973) und TOURE (1973).

Über die Chemotherapie der *T. evansi*-Infektion mit Berenil liegen dagegen nur wenige Untersuchungen vor. Zur besseren Übersicht werden in der folgenden Besprechung diese Arbeiten, je nachdem, ob sie bei Haustieren oder Laboratoriumstieren durchgeführt wurden, in zwei Gruppen gegliedert.

Unter den Haustieren behandelten HOLZ und ADIWINATA (1956) 6 experimentell mit *T. evansi* infizierte Pferde mit 3,5 mg/kg Kgw. Berenil. Bei allen Tieren traten zwischen dem 11. und 36. Tag p.th. (post therapiam) Rezidive auf. Auch eine erneute Behandlung mit der doppelten Dosis (7,0 mg/kg Kgw.) konnte weitere parasitäre Rückfälle nicht vermeiden.

Analoge Untersuchungen wurden von den Verfassern auch an Hunden in Dosierungen von 0,086 bis 20,0 mg/kg Kgw. durchgeführt. Dabei verhinderte Berenil in der Dosierung von 20,0 mg/kg Kgw. parasitäre Rückfälle nicht. Auch in den hohen Dosierungen wurden somit weder bei Pferden noch bei Hunden parasitäre Heilungen erzielt.

LEACH (1961) berichtet über die Behandlung der Surra mit Berenil (3,5 mg/kg Kgw.) beim Dromedar. Die Tiere blieben bis zu 60 Tagen p.th. frei von Parasiten. Danach traten Rezidive auf.

OPPONG (1969) behandelte drei an Surra erkrankte Hunde mit 3,5 mg/kg Kgw. Berenil. Alle Versuchstiere verendeten 3-4 Wochen p.th. an fortschreitender Schwäche mit Ataxie, ohne daß *T. evansi* mikroskopisch oder im Rückübertragungsversuch auf empfänglichen Tieren nachgewiesen wurde. Als Todesursache vermutete der Verfasser toxische Wirkungen von Berenil.

BANSAL und PATHAK (1968) führten Behandlungsversuche beim Hund in der Dosierung von 3,5 mg/kg Kgw. durch. Parasitäre Heilungen waren

nicht zu erzielen. Einer der Versuchshunde wurde innerhalb von 104 Tagen sechsmal mit jeweils 3,5 mg/kg Kgw. Berenil behandelt, ohne daß auch bei diesem Tier eine Sterilisatio bewirkt wurde.

BHATTACHARYYA und SINHA (1970) untersuchten die Wirksamkeit von Berenil in hoher Dosierung (16,0 mg/kg Kgw.) an Hunden und Wasserbüffeln. Beim Hund traten 2-3 Wochen p.th. Rezidive auf, auch eine zweite Behandlung in gleicher Dosierung verhinderte tödlich verlaufende parasitäre Rückfälle nicht.

3 Wasserbüffel mit den Symptomen der akuten Surra wurden ebenfalls mit Berenil in der Dosierung von 16,0 mg/kg Kgw. behandelt. Der Zustand der Tiere verbesserte sich rasch und Trypanosomen waren in der Folgezeit im Blut nicht mehr nachweisbar. Die Verfasser schließen jedoch eine latente Infektion nicht aus. Rückübertragungsversuche auf empfängliche Tiere zur Klärung dieser Vermutung wurden nicht vorgenommen.

GILL und SEN (1971) prüften Berenil in verschiedenen Dosierungen an Ponies. Nach der Behandlung mit 1,0, 2,0 bzw. 3,5 mg/kg Kgw. Berenil traten stets Rezidive auf. Nach der Therapie mit 5,0 mg/kg Kgw. wurden in den folgenden 60 Tagen keine Trypanosomen mehr im Blut beobachtet und die Tiere als geheilt bezeichnet. Untersuchungen zum Nachweis einer möglichen latenten Infektion wurden nicht durchgeführt.

VERMA, GAUTAM und MALIK (1973) nahmen Therapie-Versuche mit Berenil an Büffeln vor. Sie erzielten mit den Dosierungen 10,0 und 16,0 mg/kg Kgw. in allen Fällen eine parasitäre Heilung. Das Versuchsergebnis wurde durch eine abschließende Splenektomie der Kälber und Blutübertragungen auf empfängliche Versuchstiere gesichert. Ähnliche Versuche wurden von den Verfassern (VERMA, GAUTAM und MALIK, 1976) auch an Kälbern durchgeführt. Eine parasitäre Heilung wurde ebenfalls mit der Dosierung von 10,0 mg/kg Kgw. erreicht.

HOLZ und ADIWANATA (1956) führen neben Therapie-Versuchen an Pferden und Hunden auch Untersuchungen über die Wirkung von Berenil an experimentell infizierten Laboratoriumstieren durch. Die Autoren erzielten

bei Mäusen trotz Verabreichung von Berenil bis zur Dosierung von 124,0 mg/kg Kgw. keine parasitären Heilungen. Alle Versuchstiere verendeten nach Rückfällen innerhalb von 11 Tagen p.th. Auch beim Meerschweinchen war trotz Verabreichung hoher Berenil-Gaben von 100,0 mg/kg Kgw. eine Sterilisatio nicht zu erreichen. Bei allen behandelten Meerschweinchen wurden 7-13 Tage p.th. Rezidive beobachtet.

CASTILLO und MOJICA (1962) berichten über Therapie-Versuche mit Berenil (Ganaseg) an Ratten, wobei sie Dosierungen von 0,5-5,0 mg/kg Kgw. verwendeten. Bei allen behandelten Tieren traten - ungeachtet der Dosierung - innerhalb von 10-30 Tagen p.th. parasitäre Rückfälle mit tödlicher Folge auf.

BHATTACHARYYA und SINHA (1970) prüften die therapeutische Wirksamkeit von Berenil in der Dosierung 16,0 mg/kg Kgw. an Mäusen und Meerschweinchen. Bei den Mäusen wiesen die Autoren bis 70 Tage p.th. mikroskopisch keine Parasiten nach. Nach diesem Zeitpunkt wurden die Versuche abgebrochen und die behandelten Tiere als frei von Trypanosomen betrachtet. Angaben über Rückübertragungsversuche liegen keine vor. Bei den Meerschweinchen traten im Gegensatz zu den Mäusen innerhalb von 16-36 Tagen p.th. Rückfälle auf. Auch durch eine erneute Behandlung mit 16,0 mg/kg Kgw. konnte keine Heilung erzielt werden. Alle Versuchstiere verendeten an Rückfällen.

GILL (1973) ermittelte im Rahmen einer umfangreichen Prüfung verschiedener trypanozider Verbindungen für Berenil bei der Ratte eine kurative Dosis₅₀ (CD₅₀) von 3,47 mg/kg Kgw.. Die Tiere wurden als geheilt angesehen, wenn innerhalb von 40 Tagen p.th. keine Parasiten mehr im peripheren Blut nachweisbar waren. Untersuchungen auf latente Infektionen wurden nicht durchgeführt.

SCHÄRFL (1976) behandelte Goldhamster mit Berenil in den Dosierungen von 7,0, 14,0 und 21,0 mg/kg Kgw.. In der Dosierung von 7,0 mg/kg Kgw. erzielte er bei 3/5, von 14,0 mg/kg Kgw. bei 4/10 und von 21,0 mg/kg Kgw. bei 5/5 Versuchstieren eine Sterilisatio.

DENNIG (1977) behandelte experimentell mit *T. evansi* infizierte Kaninchen mit Berenil in der Dosierung von 35,0 mg/kg Kgw.. Dabei blieben die Tiere - mit Ausnahme zweier kurzzeitiger parasitärer Rückfälle - bis 5 Monate p.th. mikroskopisch parasitenfrei. Im anschließenden biologischen Test erwiesen sich sämtliche Kaninchen als latent infiziert.

Über die prophylaktische Wirksamkeit von Berenil gegenüber Trypanosomen ist bislang wenig bekannt. VAN HOEVE und CUNNINGHAM (1964) wiesen erstmals einen persistierenden Berenil-Spiegel im Serum von Versuchsrindern im Seruminkubationstest mit *T. brucei* nach und zeigten, daß bei der Dosierung von 7,0 mg/kg Kgw. eine trypanozide Wirkung bis zu 3 Wochen nach der Behandlung vorhanden ist.

LUMSDEN, HERBERT und HARDY (1965) sowie GILL (1972) bestätigten die chemoprophylaktische Wirksamkeit im Tierversuch. LUMSDEN, HERBERT und HARDY (1965) wiesen nach, daß Mäuse mit einer Dosis von 91 mg/kg Kgw. 42 Tage lang prophylaktisch vor *T. brucei*-Infektionen geschützt werden konnten. Bei der Dosierung von 45,0 mg/kg Kgw. hielt die prophylaktische Wirkung bis zum 33. Tag an. GILL (1972) beobachtete nach Verabreichung von 10,0 mg/kg Kgw. Berenil eine Schutzwirkung von 7 Tagen bei der *T. evansi*-Infektion der Ratte. Im Laufe seiner Versuche zeigte er dabei, daß die prophylaktische Wirksamkeit von der Anzahl der übertragenen Parasiten abhängig ist und durch eine hohe Infektionsdosis ganz aufgehoben wird.

Umfangreiche Untersuchungen über pharmakokinetische und chemoprophylaktische Eigenschaften von Berenil wurden von RAETHER und Mitarb. (1971, 1972, 1974) durchgeführt. Sie prüften die prophylaktische Wirkung der Verbindung an Mäusen, Ratten und Makaken bei Infektionen mit den Erregern der menschlichen Trypanosomiasis, *T. rhodesiense* und *T. gambiense*. Dabei ergaben die pharmakokinetischen und chemoprophylaktischen Untersuchungen mit Berenil keine Übereinstimmung. Es wurden nach subkutaner Applikation des Mittels

Eliminationshalbwertszeiten festgestellt, die nicht mit der im Tierversuch ermittelten langen Schutzwirkung in Einklang zu bringen waren. Die Verfasser vermuten, daß die prophylaktische Wirkung durch einen "schwachen Rückstrom von Wirkstoffen aus tieferen Kompartimenten bedingt wird, der nicht mehr mit den angewandten Nachweisverfahren erfaßt werden kann."

FINK und DANN (1974) stellten nach Verwendung von Berenil bei Mäusen mit *T. rhodesiense*- und *T. congolense*-Infektionen unterschiedlich lange Zeiten der prophylaktischen Wirksamkeit fest. Während diese bei der *T. rhodesiense*-Infektion bei Dosierungen von 10,0 mg/kg Kgw. bis zu 13 Tage post appl. (post applikationem) anhielt, war sie bei *T. congolense*-Infektionen maximal bis zu 18 Stunden nachweisbar.

Trypamidium fand unter diesem Namen erst vor wenigen Jahren breitere Anwendung, während es unter dem Firmennamen Samorin^R zur Behandlung und Prophylaxe der afrikanischen Trypanosomiasis (Nagana) schon seit Anfang der 60er Jahre im Handel ist.

Im Gegensatz zu Berenil gehört das Präparat chemisch zur Gruppe der Phenanthridin-Derivate $\left[d' \text{amino}-2 \left[(\text{amidino}-3 \text{ phenyl}) \text{ diazoamino} \right] - 7 \text{ phenyl}-9 \text{ äthyl}-10 \text{ phenanthridinium} \right]$.

Über seine Wirkung als kuratives und prophylaktisches Trypanozid liegen bei *T. congolense*- und *T. vivax*-Infektionen verschiedene umfassende Publikationen vor (FINELLE und LACOTTE, 1963; WILLIAMSON, 1970; FINELLE, 1973 b; RAETHER, 1973; TOURE, 1973). Dabei wird die therapeutische Dosis gegen die genannten Trypanosomenarten mit 0,25 - 1,0 mg/kg Kgw. angegeben. Daneben wird der Verbindung eine ausgezeichnete prophylaktische Langzeitwirkung zugeschrieben. Nach den Angaben von RAETHER (1973) bietet das Präparat in der Dosierung von 2,0 mg/kg Kgw. einen prophylaktischen Schutz von 3-4 Monaten, nach FINELLE (1973) sogar bis zu 6 Monaten.

Über die Wirksamkeit von Samorin gegen *T. evansi*-Infektionen wird lediglich von GILL (1973) berichtet. Er ermittelte dabei für die Ratte eine ED_{50} (= die Dosis, die mind. für 24 Std. das Blut parasitenfrei macht) von 8,0 mg/kg Kgw.. Eine kurative Wirksamkeit konnte von GILL nicht nachgewiesen werden.

In Tabelle I werden die wichtigsten Angaben über beide trypanozide Pharmaka tabellarisch zusammengefaßt.

Tab. 1

Produktinformationen über Berenil^R und Trypamidium^R

	Berenil ^R (HOECHST)	Trypamidium ^R (SPECIA)
Wirkstoff	4,4'-diamidino-diazoamino-benzol- diaceturat	Amino-2 (amidino-3 phenyl)diazoamino -7 phenyl-9 äthyl-10 phenanthridinium
Chem. Gruppe	Diamidine	Phenanthridine
Wirksamkeit	T. congolense, T. vivax, T. brucei (schwächer) T. evansi (wenig untersucht), Versch. Babesienspp., Theileria annulata	T. congolense, T. vivax, Therapie und Prophylaxe
Toxizität	Dos. tol. max.: 125 mg/kg (Maus)	Maus LD ₅₀ : 260 mg/kg Ratte LD ₅₀ : 500 mg/kg
Appl.-Art	s.c. - i.m.	i.m. - i.v. (bis Dosis 1,0 mg/kg) s.c. (lokale Reizerscheinungen in höheren Dosen)
Dosierung	3,5 mg/kg T. cong., T. vivax 7,0 mg/kg T. brucei	0,25-0,5 mg/kg (Therapie) 0,5-1,0-2,0 mg/kg (Prophylaxe)

III. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

A. Material und Methoden

Der verwendete Trypanosoma evansi-Stamm (Sali) wurde 1975 von DENNIG auf Sali/Indonesien aus dem Blut eines Rindes isoliert. Seit dieser Zeit wird der Stamm im Institut für Vergleichende Tropenmedizin und Parasitologie auf verschiedenen Tierarten - Mäuse, Ratten, Hamster, Meerschweinchen, Kaninchen, Katzen, Hunden, Schweinen und Ziegen - passagiert.

Die Versuche wurden an weiblichen Mäusen (NMRI-Stamm, Hann.) aus institutseigener Zucht durchgeführt. Das Alter der Tiere betrug bei Versuchsbeginn ca. 6-8 Wochen, ihr Gewicht 30-40 g. Während der Experimente wurden die Versuchstiere unter einheitlichen und gleichbleibenden Bedingungen bei einer durchschnittlichen Raumtemperatur von 22°C und einer relativen Luftfeuchtigkeit von 40-50% in Makrolonkäfigen gehalten. Als Futter erhielten die Tiere "altromin"-Mäusediät (Fa. Altrogge, Lage/Lippe) und Wasser ad libitum. Die einzelnen Versuchstiergruppen bestanden aus jeweils 10 Mäusen.

Die Blutentnahme für Nativpräparate und Ausstriche erfolgte durch Kupieren der Schwanzspitze. Die Entnahme größerer Blutmengen (bis zu 1 ml) zum Zwecke der Rückübertragung wurde bei Mäusen aus dem retroorbitalen Venenplexus nach der Methode nach NÖLLER (1955) vorgenommen. Als Antikoagulans kam Vetren^R (Fa. Promonta-Hamburg) zur Anwendung.

Die Färbung der Slutausstriche erfolgte nach der üblichen Methode mit GIEMSA-Lösung (MERCK AG, Darmstadt).

Als Inokulum wurde Blut von infizierten Spendermäusen verwendet. Zur Bestimmung der Höhe des Parasitenbefalls wurde 0,01 ml Blut

der Spendermaus mit phys. NaCl-Lösung und Trypanosomen-Zählflüssigkeit versetzt. Danach wurden in der Zählkammer nach THOMA die Trypanosomen ausgezählt. Das Mengenverhältnis beträgt 0,01 ml Blut in 0,17 ml NaCl-Lösung und 0,15 ml Trypanosomen-Zählflüssigkeit.

Die von MÜHLFORDT (1964) empfohlene Trypanosomen-Zählflüssigkeit setzt sich aus 0,025 g Phenol in 75 ml 80% Äthanol, 7 ml 40% Formol und 18 ml Eisessig zusammen. Für die Versuche ergab sich jeweils durch Verdünnung des Blutes mit phys. NaCl-Lösung das gewünschte Inokulum.

Unmittelbar nach Entnahme des Spenderblutes und Einstellung der gewünschten Parasitendichte wurde das Inokulum ausnahmslos intraperitoneal appliziert. Das verwendete Inokulum lag bei ca. 4000 Parasiten pro Maus.

Die mikroskopische Untersuchung des parasitenhaltigen Blutes erfolgte täglich im Nativpräparat. Die Höhe der Parasitämie wurde dabei nach folgendem Schema beurteilt:

- : keine Trypanosomen in 50 Gesichtsfeldern (GF) (Objektiv: 40x;
Okular: 12,5)
- (+): 1-5 Tryp./50 GF
- 1+ : 1-5 Tryp./GF $\approx$ 5000 Tryp./mm³ Blut
- 2+ : 6-20 Tryp./GF $\approx$ 5000-20000 Tryp./mm³ Blut
- 3+ : 20-50 Tryp./GF $\approx$ 20000-50000 Tryp./mm³ Blut
- 4+ : >50 Tryp./GF $\approx$ >50000 Tryp./mm³ Blut

Parasitäre Heilungen (Sterilisatio) bzw. latente Infektionen wurden im Rückübertragungsversuch ermittelt. Ich übertrug 0,5 ml Blut des fraglichen Versuchstieres auf Mäuse. Entwickelte sich eine Infektion, so wurde das Ausgangstier als latent infiziert, beim Fehlen einer solchen als parasitär geheilt bezeichnet.

Berenil^R (4,4'-diamidino-diazoamino-benzol-diaceturat; Hersteller: Fa. Hoechst, Frankfurt/M.) kam unter Berücksichtigung der wirksamen Substanz zur Anwendung.

Auch Trypamidium^R (Amino-2 [(amidino-3 phenyl)diazoamino]-7 phenyl-9 Äthyl-10 phenanthridinium; Hersteller: Fa. Specia, Rhone-Poulenc, Paris) wurde in Aqua dest. gelöst und subkutan verabreicht.

B. Ergebnisse

1. Vorversuche

Zur Prüfung der Verträglichkeit von Berenil und Trypamidium wurden die Versuche an Gruppen von jeweils 5 nicht-infizierten Mäusen vorgenommen.

Berenil vertrugen die Tiere in den Dosierungen von 50,0, 100,0 und 150,0 mg/kg Kgw. s.c. ohne sichtbare Nebenwirkungen. Bei den Dosierungen von 200,0 und 250,0 mg/kg Kgw. verendeten einzelne, bei 300,0 mg/kg Kgw. alle Versuchstiere. Aufgrund dieser Resultate wurde Berenil bis höchstens 100,0 mg/kg Kgw. verwendet.

Trypamidium war in den Dosierungen von 25,0, 50,0 und 75,0 mg/kg Kgw. s.c. gut verträglich. Bei der Dosis von 100,0 mg/kg Kgw. traten vereinzelt Todesfälle auf. In meinen Versuchen wurde Trypamidium bis maximal 75,0 mg/kg Kgw. dosiert. Bei einzelnen Versuchstieren waren an der Injektionsstelle gelegentlich lokale Reizerscheinungen zu beobachten, die sich nach wenigen Tagen wieder zurückbildeten.

Die Wirksamkeit der verwendeten Charge von Berenil wurde vergleichsweise an *Babesia canis* und *Trypanosoma congolense* geprüft. Dabei zeigte sich die Wirkung des Präparates in den Dosierungen von 3,5 und 7,0 mg/kg Kgw. an Hunden mit massivem Babesien-Befall des Blutes schon innerhalb von 24. Stunden post appl.. Die Zahl der Parasiten ging rasch zurück, die Tiere waren klinisch geheilt und Rezidive traten in der Folgezeit keine mehr auf. Gegenüber *T. congolense* zeigte das Präparat in der Dosierung von 3,5 mg/kg Kgw. eine schnelle Wirkung. Das Blut der Versuchsmäuse war innerhalb von 2 Tagen post appl. frei von Parasiten.

Die Wirksamkeit der verwendeten Charge von Trypamidium wurde ebenfalls an *T. congolense* geprüft. Dabei war das Präparat in der Dosierung von 0,5 mg/kg Kgw. in der Lage, einen massiven Parasitenbefall des Blutes bei Mäusen innerhalb von 4 Tagen post appl. zu beseitigen.

2. Untersuchungen zum Verlauf der T. evansi-Infektion nach Behandlung mit Berenil bei unterschiedlicher Parasitendichte

Im Laufe der Untersuchungen sollte geprüft werden, welchen Einfluß Berenil auf den Infektionsverlauf hat, wenn es bei gleichbleibender Dosierung während verschiedener Stadien des Parasitenbefalls angewandt wird. Der Versuch wurde in der vom Hersteller für Trypanosomen angegebenen Dosierung von 3,5 mg/kg Kgw. bei parasitären Befallsdichten von (+), 1+, 2+ und 3+/4+ durchgeführt. Die tägliche mikroskopische Blutuntersuchung wurde über einen Zeitraum von 6 Wochen post appl. vorgenommen. Bei Versuchstieren, die bis zu diesem Zeitpunkt negativ geblieben waren, wurde am 42. Tag post appl. (Stichtag) im Rückübertragungsversuch geklärt, ob eine parasitäre Heilung oder eine latente Infektion vorlag.

9/10 Mäusen mit Befallshöhe (+) blieben bis zum 42. Tag p.th. mikroskopisch parasitenfrei. Anschließend erwiesen sich 8 Mäuse als parasitär geheilt, 1 Versuchstier als latent infiziert. Dieses entwickelte am 45. Tag p.th. ein Rezidiv, das kurze Zeit später bei massivem Parasitenbefall zum Tod führte (Abb. 1, (+)).

Bei 1 Maus mit Befallshöhe (+) kam es nach einer parasitenfreien Phase von 12 Tagen p.th. zu einem Rezidiv mit allmählich ansteigender Parasitenzahl. 62 Tage p.th. verendete die Maus.

Bei 4/10 Mäusen mit Befallshöhe 1+ traten $\varnothing$ 20 Tage (min. 10 Tg.; max. 27 Tg.) p.th. Trypanosomen wieder im peripheren Blut auf. Eine aufsteigende Parasitämie führte bei allen 4 Mäusen $\varnothing$ 27 Tage (min. 15 Tg.; max. 33 Tg.) p.th. zum Tod. Bei 6/10 Mäusen wurden nach der Behandlung mikroskopisch keine Parasiten beobachtet. Bei allen 6 Tieren entwickelte sich eine Sterilisatio (Abb. 1, 1+).

Bei 6/10 Mäusen mit Befallshöhe 2+ traten zwischen dem 6. und 20. Tag p.th. parasitäre Rückfälle auf, wobei es zum Tod der Versuchstiere zwischen dem 15. und 53. Tag p.th. kam. Bei 3/10 Mäusen bestanden parasitäre Heilungen (Abb. 1, 2+). 1/10 Mäusen zeigte ein abweichendes Krankheitsgeschehen. Sie überlebte bei schwacher Befallshöhe 106 Tage, ohne daß sich während dieser Zeit eine stärkere Parasitämie aufbaute.

Bei allen 10 Mäusen mit Befallshöhe 3+/4+ wurde eine inapparente Phase von $\varnothing$ 7 Tagen (min. 1 Tg.; max. 12 Tg.) p.th. beobachtet. Im Anschluß daran traten bei allen Mäusen Rezidive auf, die $\varnothing$ 19 Tage (min. 8 Tg.; max. 30 Tg.) p.th. mit dem Tod endeten.

Die Überlebenszeit der Kontrollen betrug einheitlich 6 Tage (± 1) (Abb. 1, K).

Tabelle 2

Behandlung der *T. evansi*-Infektion der Maus bei unterschiedlicher Befallshöhe (Berenil: 3,5 mg/kg Kgw.)

<u>Befallshöhe</u>	<u>Zahl der Mäuse</u>	<u>Rezidive</u>	<u>Latente Infektion</u>	<u>Parasitäre Heilung</u>
(+)	10	2	1	8
1+	10	4	-	6
2+	10	6	1	3
3+/4+	10	10	-	-

3. Chemotherapie und Chemoprophylaxe mit Berenil

Chemotherapie

Die therapeutische Wirksamkeit von Berenil wurde in Dosierungen von 1,75, 3,5, 5,0, 7,0, 10,0, 15,0, 20,0, 25,0 und 35,0 mg/kg Kgw. geprüft. Die Behandlung erfolgte stets bei massivem Trypanosomen-Befall des Blutes ($4+ : > 50000$ Tryp./mm³ Blut). Die gleichzeitig mit jeder Versuchsgruppe infizierten Kontrollmäuse verendeten nach einer progredient verlaufenden Parasitämie $\varnothing$ 6 Tage p.i. (Tabelle 3).

Nach Behandlung mit 1,75 mg/kg Kgw. wurde bei allen Mäusen eine inapparente Phase von $\varnothing$ 6 Tagen (min. 3 Tg.; max. 7 Tg.) p.th. beobachtet; danach traten Rezidive auf, die $\varnothing$ 18 Tage (min. 14 Tg.; max. 31 Tg.) p.th. mit dem Tod endeten.

Bei allen mit 3,5 mg/kg Kgw. behandelten Mäusen waren $\varnothing$ 9 Tage (min. 6 Tg.; max. 11 Tg.) p.th. Parasiten mikroskopisch nicht nachweisbar. Im Anschluß daran kam es bei allen Versuchstieren zu parasitären Rückfällen, die $\varnothing$ 20 Tage (min. 16 Tg.; max. 39 Tg.) p.th. zum Tod führten.

Nach Behandlung mit 5,0 mg/kg Kgw. trat bei 9/10 Mäusen $\varnothing$ 10 Tage lang (min. 4 Tg.; max. 18 Tg.) p.th. eine inapparente Phase auf, nach der es $\varnothing$ 24 Tage (min. 11 Tg.; max. 50 Tg.) p.th. zu tödlich verlaufenden Rezidiven kam. 1 Maus zeigte nach einer inapparenten Phase von 6 Tagen p.th. einen über 3 Monate persistierenden geringgradigen Parasitenbefall, ehe es zu einer aszendierenden Parasitämie kam, die 99 Tage p.th. zum Tod des Versuchstieres führte.

Nach Behandlung mit 7,0 mg/kg Kgw. konnten bei 8/10 Mäusen $\varnothing$ 20 Tage (min. 8 Tg.; max. 28 Tg.) p.th. mikroskopisch keine Parasiten nachgewiesen werden. Nach parasitären Rückfällen kamen alle 8 Versuchstiere $\varnothing$ 32 Tage (min. 23 Tg.; max. 47 Tg.) p.th. ad exitum. Bei 2/10 Mäusen

Tab. 3

Therapeutische Wirksamkeit von Berenil bei der T. evansi-Infektion der Maus
(Überlebenszeit unbehandelter Kontrolltiere: $\bar{x}$ 6 Tg. $\pm$ 1)

Dosierung (mg/kg Kgw.)	Zahl der Mäuse	Auftreten von Rezidiven		Tod		Anzahl der Mäuse	
		Zahl (Mäuse)	$\bar{x}$ Zeit (Tg.p.th.)	Zahl (Mäuse)	$\bar{x}$ Zeit (Tg.p.th.)	latente Infektion	Sterili- satio
1,75	10	10	6	10	18	-	-
3,5	10	10	9	10	20	-	-
5,0	10	10	10	10	24	-	-
7,0	10	10	20	8	32	2	-
10,0	10	7	15	7	33	2	1
15,0	10	-	-	-	-	-	10
20,0	10	-	-	-	-	1	9
25,0	10	-	-	-	-	-	10
35,0	10	-	-	-	-	-	10

wurden während des Beobachtungszeitraumes (60 Tage) Trypanosomen lediglich sporadisch festgestellt. Beide erwiesen sich als latent infiziert.

Nach Behandlung mit 10,0 mg/kg Kgw. trat bei 7/10 Mäusen eine inapparente Phase von $\emptyset$ 15 Tagen (min. 11 Tg.; max. 22 Tg.) p.th. auf. Danach wurden bei allen 7 Mäusen parasitäre Rückfälle beobachtet, die $\emptyset$ 33 Tage (min. 16 Tg.; max. 49 Tg.) p.th. zum Tod führten. Bei den restlichen Versuchstieren wurden während des Beobachtungszeitraumes von 60 Tagen Trypanosomen nie festgestellt. Anschließend zeigte es sich, daß 2 der Mäuse latent infiziert waren, während bei 1 Maus eine Sterilisatio vorlag.

Bei allen mit 15,0 mg/kg Kgw. behandelten Mäusen waren während einer Beobachtungsperiode von 40 Tagen p.th. keine Parasiten mikroskopisch nachweisbar. Alle Mäuse erwiesen sich im biologischen Test als parasitär geheilt (Tabelle 3).

Bei keiner der mit 20,0 mg/kg Kgw. behandelten Mäuse wurden 40 Tage lang p.th. Trypanosomen im Blut nachgewiesen. Anschließend erwiesen sich 9/10 Mäusen als parasitär geheilt, 1 Maus als latent infiziert. Diese entwickelte nach 40 Tagen eine allmählich aszendierende Parasitämie, die 58 Tage p.th. zum Tod führte.

Mit den Dosierungen 25,0 und 35,0 mg/kg Kgw. war bei allen Mäusen während der 40-tägigen Beobachtungszeit eine Parasitenfreiheit des Blutes zu erzielen. Der anschließende Rückübertragungsversuch ergab eine Sterilisatio der Tiere.

Chemoprophylaxe

Gruppen von jeweils 10 Mäusen wurden mit 3,5, 7,0 und 10,0 mg/kg Kgw. Berenil behandelt. Die Übertragung der Parasiten erfolgte danach im 4-Tage-Rhythmus, maximal bis 20 Tage post appl.. In ähnlicher Weise

wurde mit den Versuchstieren verfahren, die mit Dosierungen von 50,0 und 100,0 mg/kg Kgw. behandelt waren, wobei die Infektion der Tiere bis 40 bzw. 52 Tage post appl. ausgedehnt wurde. Alle Mäuse wurden mit einem gleichmäßig hohen Inokulum von ca. 4000 Parasiten pro Maus infiziert. Die tägliche mikroskopische Kontrolle des Blutes erstreckte sich über einen Zeitraum von 45 Tagen, wobei der 45. Tag als Stichtag angesehen wurde. Anschließend wurde bei mikroskopisch negativen Tieren das Vorliegen einer latenten Infektion im Rückübertragungsversuch festgestellt.

Die Infektiosität der Inokula wurde für jeden Versuch an Kontrollmäusen überprüft. Bei den Kontrollen entwickelte sich der für Mäuse typische Infektionsverlauf, der 5-7 Tage p.i. ad exitum führte.

Infektion 4 Tage post appl. (Abb. 2; Ia, IIa, IIIa)

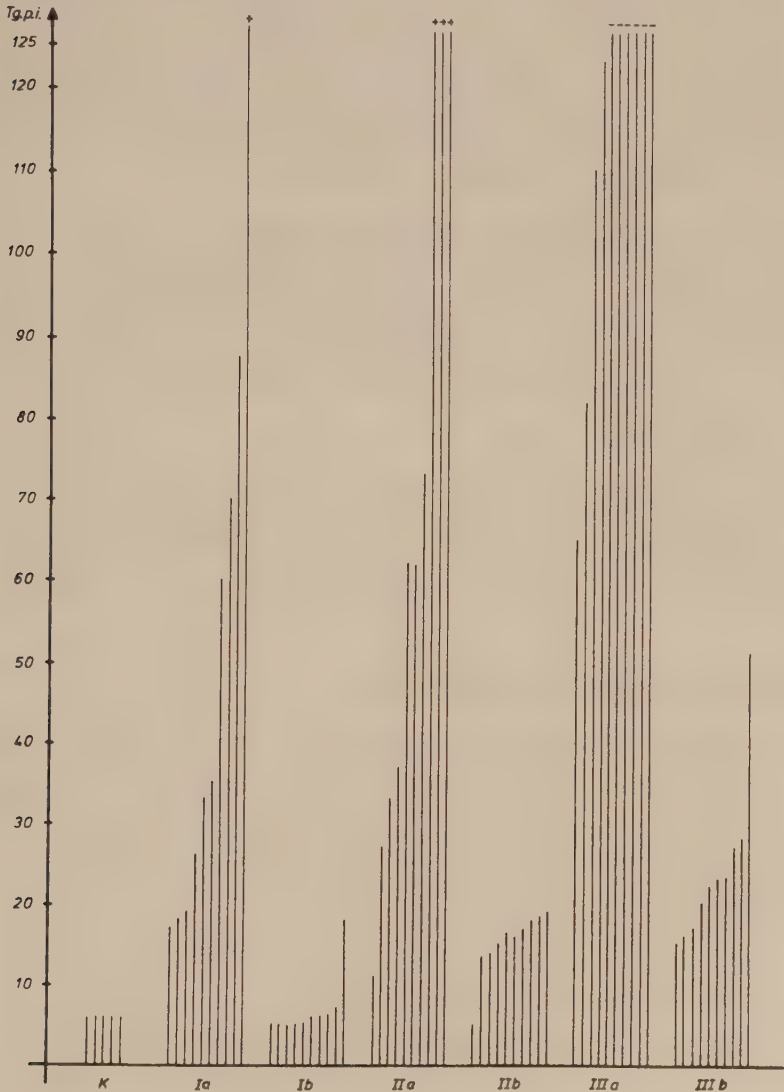
Bei den niedrigen Dosierungen lebten in Gruppe I (3,5 mg/kg Kgw.) am Stichtag (45. Tg. p.i.) noch 4/10 Mäusen, wobei 3 Mäuse über längere Zeit einen persistierenden, schwachen Parasitenbefall aufwiesen, der kurz vor dem Tod der Tiere (60-85 Tg.p.i.) deutlich anstieg. 1 Maus war latent infiziert. 6/10 Mäusen verendeten $\bar{x}$ 24 Tage (min. 17 Tg.; max. 35 Tg.) p.i. nach einer allmählich ansteigenden Parasitämie.

In Gruppe II (7,0 mg/kg Kgw.) überlebten bis zum Stichtag 6/10 Mäusen. Davon kam es bei 3 Mäusen über einen längeren Zeitraum zu einer geringgradigen persistierenden Parasitämie, die kurz vor dem Tod am 63. - 73. Tag p.i. in einen massiven Befall überging. Die übrigen 3 Mäuse erwiesen sich als latent infiziert. 4 Mäuse verendeten nach einer allmählich ansteigenden Parasitämie $\bar{x}$ 27 Tage (min. 11 Tg.; max. 37 Tg.) p.i..

In Gruppe III (10,0 mg/kg Kgw.) überlebten bis zum Stichtag alle Mäuse. Bei 4/10 Mäusen wechselten sich anfangs mikroskopisch positive und negative Phasen ab, die später in eine ascendierende Parasitämie übergingen. Die Mäuse verendeten $\bar{x}$ 95 Tage (min. 65 Tg.; max. 124 Tg.) p.i.. 6 Mäuse erwiesen sich als parasitär geheilt.

Abb. 2

Überlebenszeit von *T. evansi*-infizierten Mäusen nach prophylaktischer Behandlung mit Berenil (3,5, 7,0, 10,0 mg/kg Kgw.)



K: Kontrollen
 I: 3,5 mg/kg Kgw.
 II: 7,0 mg/kg Kgw.
 III: 10,0 mg/kg Kgw.

a: Infekt. 4 Tg. post appl.
 b: Infekt. 8 Tg. post appl.
 +: latente Infektion
 -: parasitäre Heilung

Infektion 8 Tage post appl. (Abb. 2; Ib, IIb, IIIb)

In Gruppe I (3,5 mg/kg Kgw.) bestand hinsichtlich des Infektionsverlaufes - mit Ausnahme einer Maus - kein Unterschied zur Kontrollgruppe. 9/10 Mäusen verendeten 5-7 Tage p.i.. Die übrige Maus zeigte am 6. Tag p.i. bei hoher Parasitämie ein jähes Absinken der Trypanosomenzahl. Bis zum 10. Tag p.i. wurden mikroskopisch keine Parasiten mehr nachgewiesen. Danach entwickelte sich erneut eine ascendierende Parasitämie, die am 18. Tag p.i. zum Tod des Tieres führte.

In Gruppe II (7,0 mg/kg Kgw.) verendeten ebenfalls alle Mäuse. Im Vergleich zu den Kontrollen zeigte das Infektionsgeschehen jedoch einen protrahierten Verlauf. An eine 4-5tägige ascendierende Phase schloß sich eine kurze negative Periode an, die kurze Zeit später in eine ansteigende Parasitämie überging. Der Tod trat ø 16 Tage (min. 13 Tg.; max. 19 Tg.) p.i. ein.

Bei den Versuchstieren der Gruppe III (10,0 mg/kg Kgw.) entwickelte sich ausnahmslos eine protrahiert verlaufende Infektion. Alle Mäuse verendeten nach einer massiven Parasitämie ø 24 Tage (min. 15 Tg.; max. 50 Tg.) p.i..

Infektion 12, 16 und 20 Tage post appl.

Bei den Mäusen der Gruppen I, II und der Mehrzahl der Gruppe III unterschied sich der Infektionsverlauf nicht von dem der Kontrollen. Bei 4/10 Mäusen der Gruppe III (10,0 mg/kg Kgw.; Infektion 12 Tg. post appl.) trat der Tod später (9-41 Tg. p.i.) nach ansteigender Parasitämie ein.

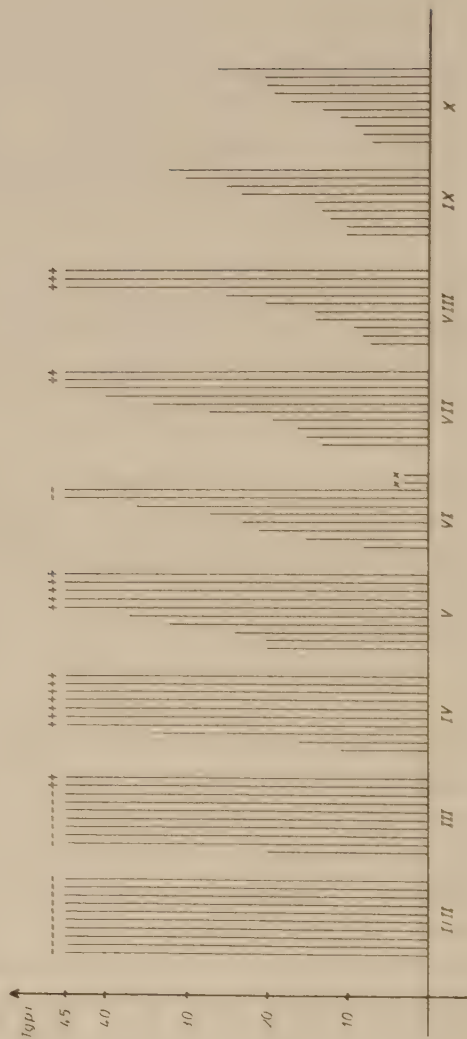
Bei der Prüfung der prophylaktischen Wirksamkeit von 50,0 mg/kg Kgw. (Abb. 3) wurden bei den Tieren der Versuchsgruppen I und II (Infektion 4 und 8 Tg. post appl.) bis 45 Tage p.i. keine Parasiten im peripheren Blut nachgewiesen. Mit Ausnahme von 2 Mäusen der Gruppe II stellte sich bei allen Versuchstieren eine Sterilisatio ein. In den Gruppen III bis VIII (Infektion 12-32 Tg. post appl.) traten in zunehmender Zahl Todesfälle auf. In den meisten Fällen zeichnete sich der Infektionsverlauf durch eine längere Zeit andauernde geringgradige Parasitämie aus, die kurz vor dem Tod der Mäuse (12-70 Tg.p.i.) deutlich anstieg. Bei der Mehrzahl der Überlebenden Mäuse waren nach der Infektion für 1-3 Tage sporadisch Parasiten nachzuweisen. Die meisten Tiere erwiesen sich als latent infiziert. In den Gruppen IX und X (Infektion 36 und 40 Tg. post appl.) verendeten alle Tiere nach $\varnothing$ 18 bzw. 15 Tagen p.i. nach einer allmählich ansteigenden Parasitämie.

Bei der Prüfung der prophylaktischen Wirksamkeit von 100,0 mg/kg Kgw. (Abb. 4) waren in den Versuchsgruppen I und II (Infektion 4 und 8 Tg. post appl.) bis zum Stichtag in keinem Fall mikroskopisch Trypanosomen zu beobachten. Bei allen Versuchstieren hatte sich eine Sterilisatio eingestellt. In den Versuchsgruppen III, IV und V (Infektion 12-20 Tg. post appl.) traten bei einzelnen Mäusen kurze Zeit nach der Infektion vereinzelt Parasiten im Blut auf. Am Stichtag erwiesen sich im Rückübertragungsversuch 22 von 28 Mäusen als latent infiziert. Bei 2 Tieren aus Gruppe V unterschied sich der Infektionsverlauf dadurch, daß 10 bzw. 12 Tage nach dem Verschwinden der Parasiten aus dem Blut Rezidive auftraten, die 24 bzw. 36 Tage p.i. zum Tod führten.

In den Gruppen VI bis XI (Infektion 24-44 Tg. post appl.) entwickelte sich bei allen Tieren nach Applikation des Inokulums eine gering- bis mittelgradige Parasitämie, die bis zu 10 Tage anhielt. Bei der Mehrzahl der Mäuse verschwanden jedoch die Parasiten danach aus dem peripheren Blut und konnten bis zum Stichtag mikroskopisch nicht mehr nachgewiesen werden. Von diesen Mäusen erwiesen sich 24 als latent infiziert, 10 als frei von Trypanosomen. Einige Mäuse verendeten im Laufe der Infektion,

Abb. 3

Überlebenszeit von T. evansi-infizierten Mäusen nach prophylaktischer Behandlung mit Berenil (50,0 mg/kg Kgw.)
(Überlebenszeit der Kontrollmäuse: 6 Tg. ± 1)



I-X: Infektion 4-40 Tage post appl. (jeweils in 4-tägigem Abstand)

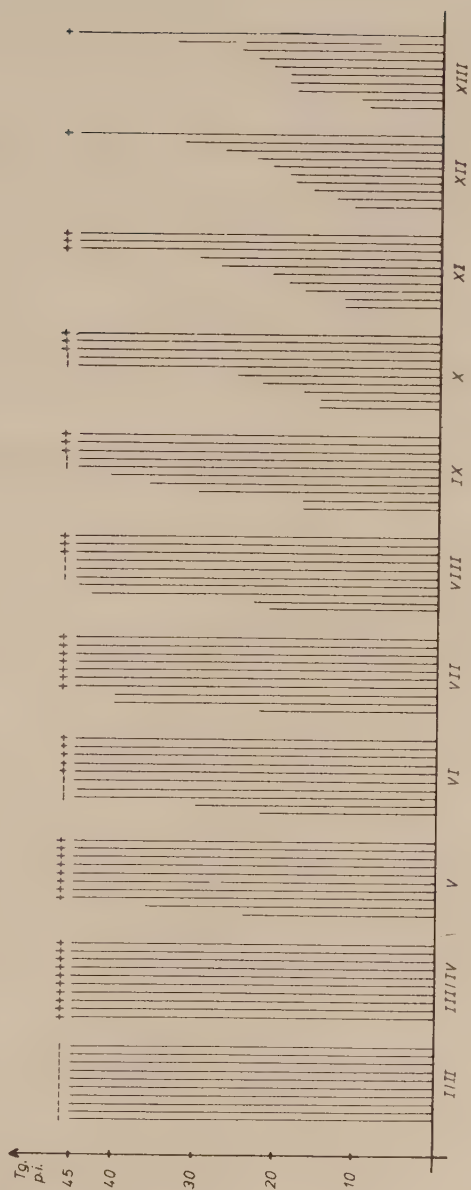
+: latente Infektion

-: parasitäre Heilung

x: interkurrenter Ausfall

Abb. 4

Überlebenszeit von T. evansi-infizierten Mäusen nach prophylaktischer Behandlung
mit Berenil (100,0 mg/kg Kgw.)
(Überlebenszeit der Kontrollmäuse: 6 Tg. $\pm$ 1)



I-XIII: Infektion 4-52 Tage post appl. (jeweils in 4-tägigem Abstand)
+: latente Infektion
-: parasitäre Heilung

wobei die Zahl der Todesfälle von Gruppe VI bis Gruppe XI zunahm. Jeweils 1 Maus der Gruppen IV, IX und X zeigte am Stichtag einen schwachen Parasitenbefall, der vor Eintritt des Todes (50-64 Tg.p.i.) erheblich anstieg.

In den Gruppen XII und XIII (Infektion 48 und 52 Tg. post appl.) überlebte jeweils 1 Maus. Beide waren latent infiziert. Die übrigen Mäuse verendeten $\emptyset$ 20 (Gr. XII) bzw. 19 Tage (Gr. XIII) p.i. nach allmählich zunehmender Parasitendichte.

Der Versuch wurde 120 Tage p.i. abgebrochen, wobei bei keiner der Überlebenden Mäuse mikroskopisch Trypanosomen nachgewiesen wurden.

4. Chemotherapie und Chemoprophylaxe mit Trypamidium

Chemotherapie

Trypamidium wurde in den Dosierungen von 0,25, 0,5, 1,0, 5,0, 10,0, 25,0 und 50,0 mg/kg Kgw. geprüft. Die Therapie erfolgte bei massivem Parasitenbefall ($4+ \Rightarrow 50000$ Tryp./mm³ Blut). (Tabelle 4)

Nach Behandlung mit 0,25 mg/kg Kgw. verschwanden bei 3/10 Mäusen die Parasiten am 3. bzw. 4. Tag post appl. für 2-3 Tage aus dem peripheren Blut. Danach kam es bei allen 3 Versuchstieren zu Rezidiven. Nach einer protrahiert verlaufenden Parasitämie kamen die Mäuse $\emptyset$ 14 Tage (min. 12 Tg.; max. 16 Tg.) p.th. ad exitum. Bei 7 Mäusen war die massive Parasitämie durch die Behandlung nicht beeinflussbar. Sie führte bei allen 7 Mäusen $\emptyset$ 4 Tage (min. 3 Tg.; max. 5 Tg.) p.th. zum Tod.

Bei 6/10 der mit 0,5 mg/kg Kgw. behandelten Mäuse waren zwischen dem 3. und 5. Tag p.th. mikroskopisch keine Trypanosomen zu beobachten, wobei die inapparente Phase 1-4 Tage lang andauerte. Im Anschluß daran kam es bei allen 6 Mäusen zu parasitären Rückfällen, die $\emptyset$ 12 Tage (min. 11 Tg.; max. 13 Tg.) p.th. tödlich verliefen. Bei 4 Mäusen ließ sich die massive Parasitämie durch die Behandlung nicht beeinflussen. Die Tiere verendeten 3-7 Tage p.th..

Nach Behandlung mit 1,0 mg/kg Kgw. kam es bei 5/10 Mäusen 3-5 Tage p.th. zu einer inapparenten Phase, die 1-5 Tage anhielt. Danach traten bei allen 5 Versuchstieren Rezidive auf, die nach einer allmählich zunehmenden Parasitendichte $\emptyset$ 16 Tage (min. 11 Tg.; max. 27 Tg.) p.th. zum Tode führten. Bei den übrigen 5 Mäusen wurden die Trypanosomen bis zum Tod (5-7 Tg. p.th.) in unverändert hoher Dichte beobachtet.

Nach Behandlung mit 5,0 mg/kg Kgw. trat 2-3 Tage p.th. bei allen Mäusen eine 5-10 Tage andauernde parasitenfreie Phase auf. Danach kam es bei den Versuchstieren zu Rezidiven, die nach sehr unterschiedlichem zeitlichem und graduellen Verlauf ausnahmslos zum Tod führten.

Diese Versuchstiergruppe läßt sich, entsprechend ihrem Infektionsverhalten, in 2 Untergruppen zusammenfassen:

In einer dieser Untergruppen verendeten die Mäuse nach einer allmählich ascendierenden Parasitämie $\emptyset$ 23 Tage (min. 18 Tg.; max. 35 Tg.) p.th.. Bei der 2. Untergruppe trat der Tod der Mäuse nach einer etwa doppelt so langen Zeitspanne ein. In dieser Zeit verhielt sich die Höhe der Parasitämie sehr unterschiedlich. Hohe Befallsdichten wechselten sich bei den einzelnen Tieren mit negativen Phasen ab, wobei sich gelegentlich auf dem Kulminationspunkt der Parasitämie ein jäher Abfall der Parasitenzahl einstellte. Der Tod trat $\emptyset$ 51 Tage (min. 45 Tg.; max. 66 Tg.) p.th. ein (Tabelle 4).

Bei allen mit 10,0 mg/kg Kgw. behandelten Mäusen verschwanden 2-3 Tage p.th. die Parasiten aus dem Blut. Durchschnittlich 12 Tage später wurden sie wieder nachweisbar. 7/10 Mäusen erlagen der Infektion $\emptyset$ 32 Tage (min. 19 Tg.; max. 52 Tg.) p.th.. Bei den übrigen 3 Mäusen waren während der 50-tägigen Beobachtungszeit nur vereinzelte Trypanosomen an wenigen Tagen nachweisbar. 2 Tiere erwiesen sich als latent infiziert, das dritte als parasitär geheilt.

Tab. 4

Therapeutische Wirksamkeit von Trypamidium bei der T. evansi-Infektion der Maus
(Überlebenszeit unbehandelter Kontrolltiere: $\emptyset$ 6 Tg. ⁺¹ -1)

Dosierung (mg/kg Kgw.)	Zahl der Mäuse	Auftreten von Rezidiven Zahl (Mäuse)	$\emptyset$ Zeit (Tg.p.th.)	Zahl (Mäuse)	Tod (Tg.p.th.)	Anzahl der Mäuse latente Infektion	Sterili- satio
0,25	10	3	2	10	7	-	-
0,5	10	6	3	10	9	-	-
1,0	10	5	3	10	11	-	-
5,0	10	10	7	10	36	-	-
10,0	10	10	12	7	32	2	1
25,0	10	6	20	4	36	2	4
50,0	10	2	21	2	31	-	8

Bei allen mit 25,0 mg/kg Kgw. behandelten Mäusen verschwanden die Parasiten 2-4 Tage p.th. aus dem Blut. Bei 4/10 Mäusen traten nach einer $\emptyset$ 17 Tage währenden inapparenten Phase Rezidive mit allmählich steigender Parasitenzahl auf, die $\emptyset$ 36 Tage (min. 34 Tg.; max. 39 Tg.) p.th. mit dem Tod endeten. Bei 2 Mäusen bestand vom 25.-28. Tag bzw. 18.-36. Tag p.th. ein schwacher Parasitenbefall. Beide Mäuse erwiesen sich nach 50 Tagen p.th. als latent infiziert. Bei den restlichen 4 Mäusen wurden während der Beobachtungszeit mikroskopisch keine Parasiten nachgewiesen. Im Rückübertragungsversuch ergab sich eine Sterilisatio.

Nach Behandlung mit 50,0 mg/kg Kgw. trat bei 2/10 Mäusen eine inapparente Phase 2 Tage p.th. auf. Bei beiden Versuchstieren kam es 17 bzw. 25 Tage p.th. zur Rezidivbildung. Nach allmählich ansteigender Parasitämie verendeten beide 29 bzw. 32 Tage p.th.. 8/10 Mäusen waren während der 50-tägigen Beobachtungszeit mikroskopisch frei von Trypanosomen. Bei allen Tieren wurde danach eine parasitäre Heilung festgestellt (Tabelle 4).

Chemoprophylaxe

Die prophylaktische Wirksamkeit von Trypamidium wurde in den Dosierungen von 0,5, 5,0, 25,0, 50,0 und 75,0 mg/kg Kgw. geprüft. Die Versuchsanordnung glich der bei Berenil beschriebenen. Die Überlebenszeit der Kontrollen betrug 6 (± 1) Tage.

Infektion 4 Tage post appl.

Bei 9/10 der mit 0,5 mg/kg Kgw. behandelten Mäusen traten 5-6 Tage p.i. die ersten Parasiten im peripheren Blut auf. Nach einer allmählich ansteigenden Parasitämie verendeten die Mäuse bei massivem Trypanosomenbefall $\emptyset$ 20 Tage p.i. (min. 12 Tg.; max. 34 Tg.). Bei 1 Maus entwickelte sich vom 6.-16. Tag p.i. ein geringgradiger Trypanosomenbefall. Danach konnten bis Versuchsende (45. Tg. p.i.) keine Parasiten mehr im Blut nachgewiesen werden. Das Tier erwies sich daraufhin als latent infiziert.

Bei 7/10 der mit 5,0 mg/kg Kgw. behandelten Mäuse setzte die Parasitämie 4-6 Tage p.i. ein. Nach allmählich zunehmender Parasitendichte verendeten die Tiere $\emptyset$ 20 Tage p.i. (min. 12 Tg.; max. 43 Tg.). Bei den restlichen 3 Mäusen war das Infektionsbild über mehrere Wochen hinweg durch eine geringgradige Parasitenzahl gekennzeichnet, wobei eine ansteigende Tendenz fehlte. 2 Mäuse erwiesen sich als latent infiziert, 1 Maus als parasitär geheilt.

Bei 7/10 der mit 25,0 mg/kg Kgw. behandelten Mäuse (Abb. 5, Ia) wurden bis zum 45. Tag p.i. keine Parasiten im Blut beobachtet. Alle Mäuse erwiesen sich bei Versuchsende als parasitär geheilt. Bei 2 Mäusen waren am 2. und 3. Tag p.i. vereinzelte Trypanosomen nachweisbar. In der Folgezeit wurden bis zum 13. bzw. 15. Tag p.i. keine Parasiten mehr beobachtet. Danach traten Rezidive auf, die bei rascher Parasitenzunahme am 19. bzw. 23. Tag p.i. zum Tod führten. 1 Maus entwickelte vom 2. Tag p.i. an eine deutlich ansteigende Parasitämie mit Tod am 9. Tag p.i..

Bei 7/10 der mit 50,0 mg/kg Kgw. behandelten Mäuse (Abb. 5, IIa) waren während einer 45-tägigen Beobachtungszeit mikroskopisch keine Trypanosomen nachweisbar. Zum Versuchsende erwiesen sich alle Mäuse als parasitenfrei. Bei 3 Mäusen traten am 2. Tag p.i. vereinzelte Parasiten im Blut auf. In der Folgezeit wurden bis zum 16. bzw. 24. Tag p.i. keine Trypanosomen mehr nachgewiesen. Danach setzten Rezidive ein, die kurz vor dem Tod $\emptyset$ 27 Tage p.i. (min. 24 Tg.; max. 32 Tg.) hohe parasitäre Befallsdichten aufwiesen.

Bei 8/10 der mit 75,0 mg/kg Kgw. behandelten Mäuse (Abb. 5, IIIa) wurden zu keinem Zeitpunkt nach der Infektion Parasiten im Blut beobachtet. Alle Versuchstiere erwiesen sich bei Versuchsende (45. Tg. p.i.) als parasitär geheilt. Bei den restlichen 2 Mäusen kam es am 9. bzw. 17. Tag p.i. zum ersten Auftreten von Trypanosomen im Blut. Eine rasche Zunahme der Parasitenzahl führte am 16. bzw. 24. Tag p.i. zum Tod.

Infektion 8 Tage post appl.

Bei allen der mit 25,0 mg/kg Kgw. behandelten Mäusen (Abb. 5, Ib) war vom 2.-5. Tag p.i. ein geringgradiger Parasitenbefall festzustellen. Bei 4/10 Mäusen setzte daraufhin ein allmählich zunehmender Parasitenbefall ein, der $\emptyset$ 16 Tage p.i. (min. 12 Tg.; max. 19 Tg.) zum Tod führte. Bei 3 Mäusen wechselten positive und negative Phasen ab, ehe die Tiere schließlich nach einer deutlichen Zunahme der Parasitendichte $\emptyset$ 35 Tage p.i. (min. 26 Tg.; max. 47 Tg.) ad exitum kamen. Das Blut der restlichen 3 Mäuse war nach anfänglich schwacher Parasitämie bis Versuchsende mikroskopisch frei von Trypanosomen. 2 Mäuse erwiesen sich als parasitär geheilt, während bei 1 Maus eine latente Infektion festgestellt wurde.

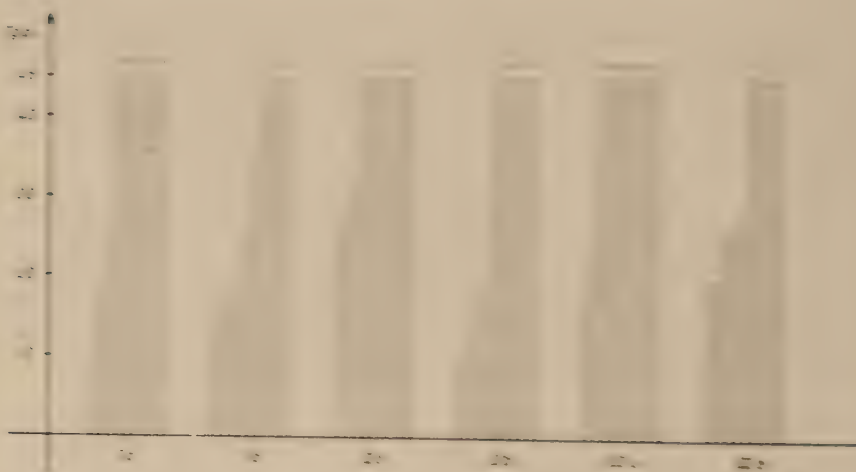
1 Maus, die mit 50,0 mg/kg Kgw. behandelt wurde, war bis Versuchsende mikroskopisch frei von Parasiten (Abb. 5, IIb). Bei 4 Mäusen bildete sich nach der Infektion bis maximal 16 Tage p.i. eine schwache Parasitämie aus. In der Folge verschwanden die Parasiten aus dem Blut. Bei allen 5 Versuchstieren wurde später eine Sterilisatio festgestellt. Bei 4 Mäusen entwickelte sich kurze Zeit nach der Infektion ein allmählich ansteigender Parasitenbefall, der $\emptyset$ 15 Tage p.i. (min. 9 Tg.; max. 19 Tg.) zum Tod führte. Bei 1 Maus traten am 35. Tag p.i. erstmals Parasiten im Blut auf. Nach einer rasch ansteigenden Parasitämie verendete die Maus 44 Tage p.i. bei massivem Trypanosomenbefall.

Alle mit 75,0 mg/kg Kgw. behandelten Mäuse (Abb. 5, IIIb) zeigten vom 5.-7. Tag p.i. einen schwachen Parasitenbefall. Bei 5/10 Mäusen verschwanden danach die Trypanosomen. Bei Versuchsende wurde eine Sterilisatio festgestellt. Bei den übrigen 5 Mäusen wurden vom 7.-13. Tag p.i. ebenfalls keine Parasiten beobachtet. Im Anschluß daran kam es jedoch bei allen 5 Mäusen zu parasitären Rückfällen. Nach allmählich zunehmendem Befall verendeten die Versuchstiere $\emptyset$ 24 Tage p.i. (min. 19 Tg.; max. 28 Tg.).

...
...
...
...

Table 1

...
...
...



...
...
...

...
...
...

IV. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

Das Hauptziel der Arbeit war es, die therapeutische und prophylaktische Wirksamkeit von Berenil und Trypamidium zu untersuchen. Meine Untersuchungen haben gezeigt, daß beide Präparate sowohl in therapeutischer als auch in prophylaktischer Hinsicht wirksam sind, wobei jedoch der Grad der Effektivität der beiden Mittel Unterschiede aufweist.

Beide trypanozide Verbindungen sollten unter starker Infektionsbelastung geprüft werden. In diesem Zusammenhang hatte sich die Frage gestellt, ob die Höhe der Parasitämie infizierter Mäuse einen Einfluß auf die Wirkungsweise des jeweiligen Präparates hat, oder ob diese unabhängig davon verläuft. Zur Klärung dieser Problematik wurde am Beispiel von Berenil ein Versuch durchgeführt, der deutlich machte, daß die Höhe des Parasitenbefalls zum Zeitpunkt der Behandlung von ausschlaggebender Bedeutung für den weiteren Verlauf der Infektion bzw. seiner Heilung ist. So führte die vom Hersteller allgemein zur Behandlung von Trypanosomeninfektionen empfohlene Dosierung von 3,5 mg/kg Kgw. bei Versuchstieren mit einem schwachen *T. evansi*-Befall in der Mehrzahl zur parasitären Heilung, während die gleiche Dosierung bei Mäusen mit hoher Parasitämie in keinem Fall tödlich verlaufende Rezidive verhindern konnte.

Das Ergebnis dieses Versuches weist auch auf die Schwierigkeiten hinsichtlich der Interpretation zahlreicher Literaturangaben hin, in denen präzise Angaben über die Höhe der Parasitämie zum Zeitpunkt der Behandlung fehlen. Unter diesem Aspekt ist es theoretisch möglich, daß ein und dasselbe Mittel, in gleicher Dosierung, bei gleicher Parasiten- und Versuchstierart angewendet, bei verschiedenen Autoren eine weitgehend unterschiedliche Beurteilung findet einzig und allein deshalb, weil bei unterschiedlicher Infektionshöhe behandelt wurde. So setzen beispielsweise BHATTACHARYYA und SINHA (1970) die Therapie von *T. evansi*-Infektionen bei Mäusen zu einem Zeitpunkt an, den sie als eine "positive Phase der Infektion" bezeichnen oder HOLZ und ADIWINATA (1956) bei einem Infektionsgrad von "11 und mehr

Trypanosomen im Blickfeld", eine Bezeichnung, die ebenfalls nahezu alle Grade der Parasitämie einschließt.

Um Ungenauigkeiten dieser Art zu vermeiden und um rekonstruierbare Ergebnisse zu erhalten, wurden für meine Versuche Tiere ausgewählt, die einen massiven Parasitenbefall des Blutes aufwiesen. Auf diese Weise war m.E. auch eine extreme Belastung des Organismus zum Zeitpunkt der Behandlung am weitestgehendsten gewährleistet.

Meine Versuchsergebnisse wurden im folgenden, entsprechend des verwendeten Präparates, getrennt diskutiert.

Chemotherapie mit Berenil

Die therapeutische Wirksamkeit von Berenil wurde in den Dosierungen von 1,75, 3,5, 5,0, 7,0, 10,0, 15,0, 20,0, 25,0 und 35,0 mg/kg Kgw. geprüft. Dabei wurde selbst in der niedrigsten Dosierung von 1,75 mg/kg Kgw. eine deutliche chemotherapeutische Wirkung festgestellt. Bei dieser, wie auch den übrigen höheren Dosierungen verschwanden innerhalb von 24 Stunden nach Applikation des Chemotherapeutikums die Parasiten aus dem Blut der Versuchstiere. Diese Beobachtungen decken sich weitgehend mit denen von GILL (1964) und CASTILLO und MOJICA (1962), die bei der Behandlung der *T. evansi*-Infektion der Ratte mit Berenil ebenfalls 8 bzw. 18 Stunden nach der Therapie keine Trypanosomen im Blut mehr feststellten.

Bis zur Dosis von 5,0 mg/kg Kgw. traten bei allen Versuchstieren tödlich verlaufende parasitäre Rückfälle auf. Eine sichere parasitäre Heilung wurde mit der Dosierung von 15,0 mg/kg Kgw. erzielt. Bei den dazwischenliegenden Dosierungen von 7,0 und 10,0 mg/kg Kgw. kam es bei der Mehrzahl der Fälle zu tödlich verlaufenden Rezidiven. Zudem war bei einzelnen Mäusen erstmals das Auftreten latenter Infektionen zu beobachten. Die höheren Dosierungen von 20,0, 25,0 und 35,0 mg/kg Kgw. führten, mit einer einzigen, wahrscheinlich durch einen arbeitstechnischen Fehler bedingten Ausnahme, zur Sterilisatio.

Meine Versuchsergebnisse mit Dosierungen, die zur sicheren parasitären Heilung führten, stimmen weitgehend mit den Beobachtungen von BHATTACHARYYA und SINHA (1970) überein. Die Autoren bewirkten bei *T. evansi*-infizierten Mäusen mit 16,0 mg/kg Kgw. eine Heilung. Da sie am Ende ihrer Versuche nicht abklärten, ob es sich um eine Sterilisatio oder nur um latente Infektionen der Tiere handelte, kann die Diagnose "parasitäre Heilung" mit Sicherheit nicht gestellt werden. Aufgrund meiner Ergebnisse, in denen die Dosierung 15,0 mg/kg Kgw Berenil ausnahmslos zur Sterilisatio führte, ist jedoch anzunehmen, daß auch bei den Untersuchungen von BHATTACHARYYA und SINHA (1970) eine parasitäre Heilung vorlag.

Meine Versuchsergebnisse stimmen dagegen nicht mit denen von HOLZ und ADIWINATA (1956) überein. Diese Autoren prüften bei *T. evansi*-infizierten Mäusen Berenil in Dosierungen bis zu 125,0 mg/kg Kgw. (Dos. tol. max.). Während in meinen Versuchen auch bei niedrigster Dosierung (1,75 mg/kg Kgw.) schon kurze Zeit nach Applikation des Mittels die Parasiten aus dem Blut verschwanden, traten bei HOLZ und ADIWINATA (1956) selbst bei hohen Dosierungen stets parasitäre Rückfälle mit tödlicher Folge auf. Leider verwendeten die Autoren bei ihren Versuchen jeweils nur eine einzige Maus pro Dosierung, wodurch die Aussagekraft der Untersuchungen stark eingeschränkt ist. Im Übrigen ist schwer verständlich, daß der Tod des Versuchstieres schon 24 Stunden nach Auftreten des Rezidivs eingetreten sein soll. Dieses Infektionsverhalten widerspricht allen Erfahrungen, die ich während meiner Untersuchungen machte. Hierbei lag stets zwischen dem ersten Auftreten der Parasiten und dem Exitus eine Zeitspanne von mindestens 5 Tagen, in der sich die Parasitämie allmählich aufbaute. Auch das Versuchsergebnis der Autoren mit der vergleichsweise niedrigen Dosis von 15,0 mg/kg Kgw. ist schwierig zu interpretieren. Bei der behandelten Maus soll 24 Stunden nach Verabreichung des Mittels ein Rezidiv aufgetreten sein, das 3 Tage später ad exitum führte. In diesem Fall dürfte m.E. der Begriff Rezidiv nicht verwendet werden. Nach herkömmlicher Definition versteht man unter einem parasitären Rezidiv das Wiederauftreten der Parasiten nach längerer parasitenfreier Phase.

Eine solche Phase kann innerhalb der 24 Stunden nach der Behandlung schwerlich bestanden haben. Man sollte deshalb das Ergebnis von HOLZ und ADIWINATA (1956) dahingehend auslegen, daß Berenil in diesem Falle keine oder eine nur sehr begrenzte Wirksamkeit aufwies, die eine Vermehrung der Trypanosomen und den Tod des Tieres nicht verhindern konnte. Aber auch in dieser Hinsicht besteht zu meinen Versuchsergebnissen ein deutlicher Unterschied, da in diesen mit Dosierungen von 15,0 mg/kg Kgw. ausnahmslos parasitäre Heilungen erzielt wurden.

GILL (1973) bewirkte bei der Behandlung der *T. evansi*-Infektion der Ratte mit 3,47 mg/kg Kgw. Berenil bei 50% der Versuchstiere eine Heilung. Dabei blieb das Blut der Ratten 40 Tage lang, bis zum Abbruch des Versuches, mikroskopisch frei von Trypanosomen. Diese Beobachtungen stehen in gewissem Widerspruch zu meinen Versuchsergebnissen, wobei sämtliche Mäuse nach Verabreichung der annähernd gleichen Dosis an Rezidiven verendeten. Ein Vergleich beider Untersuchungen ist schwierig, da mit verschiedenen Versuchstierarten gearbeitet wurde. Die Möglichkeit, daß Berenil die *T. evansi*-Infektion in Maus und Ratte unterschiedlich beeinflusst, besteht zweifellos und könnte eine Erklärung für die abweichenden Versuchsergebnisse sein. Ein Vergleich fällt auch deshalb schwer, weil GILL die Behandlung bei einem wesentlich geringeren Parasitenbefall vornahm. Seine Ergebnisse würden sich, wenn man den Infektionsgrad zum Zeitpunkt der Behandlung als Richtpunkt nimmt, mit den eigenen Ergebnissen an solchen Mäusen decken, die bei vergleichbarem Parasitenbefall und nicht auf dem Höhepunkt der Infektion behandelt wurden. Auch bei der Mehrzahl dieser Mäuse stellte sich, analog den Beobachtungen von GILL an Ratten, eine parasitäre Heilung ein. Das unterschiedliche Ergebnis unserer Untersuchungen dürfte deshalb auf die Tatsache zurückzuführen sein, daß GILL seine Versuchstiere bei einem wesentlich niedrigeren Parasitenbefall benancelte, als dies in meinen Versuchen geschah.

Weitere vergleichbare Untersuchungen an Mäusen fehlen leider. Es soll deshalb auf das Resultat von Behandlungsversuchen mit anderen Tierarten zurückgegriffen werden. Ich bin mir bewußt, daß dies problematisch ist. Dazu kommt, daß die einzelnen Autoren mit verschiedenen Trypanosomenstämmen arbeiteten und zu verschiedenen Zeitpunkten der Infektion die Behandlung vornahmen. Trotzdem scheint mir ein Vergleich gerechtfertigt und von Interesse zu sein.

VERMA, GAUTAM und MALIK (1973, 1976) erzielten sowohl mit 10,0 mg/kg als auch mit 16,0 mg/kg Kgw. Berenil an einem Kollektiv von Kälbern und Büffelkälbern parasitäre Heilungen der *T. evansi*-Infektion. In der Dosierung von 16,0 mg/kg Kgw. deckt sich dieses Versuchsergebnis durchaus mit meinen Beobachtungen. In der niedrigeren Dosierung war jedoch in meinen Versuchen bei Mäusen nur ausnahmsweise eine Sterilisation zu bewirken.

Das Ergebnis der Untersuchungen von BHATTACHARYYA und SINHA (1970), die ebenfalls Wasserbüffel mit 16,0 mg/kg Kgw. behandelten und damit eine Parasitenfreiheit erzielten, kann nur hinsichtlich der vorhandenen kurativen Wirkung beurteilt werden. Was die parasitäre Heilung betrifft, so wäre bestenfalls eine spekulativer Vergleich mit der vorhergehenden Arbeit und meinen Untersuchungen möglich, da von den Verfassern eine latente Infektion leider nicht ausgeschlossen wurde. Dasselbe gilt für die Untersuchungen von GILL und SEN (1971).

Ohne Zweifel sind, wie schon eingangs erwähnt, tierartliche Unterschiede bei der Behandlung der *T. evansi*-Infektion von ausschlaggebender Bedeutung. Während, wie eben gezeigt wurde, VERMA, GAUTAM und MALIK (1976) beim Kalb schon mit einer Dosierung von 10,0 mg/kg Kgw. sichere parasitäre Heilungen erzielten, waren diese beim Kaninchen selbst in der mehr als 3-fachen Dosierung (35,0 mg/kg Kgw.) nicht möglich (DENNIG, 1977). Es kam in diesen Fällen ausschließlich zur persistierenden latenten Infektion.

Ein ähnliches Beispiel bieten Versuche, die bei der *T. evansi*-Infektion des Hundes vorgenommen wurden. Bei dieser Tierart konnte eine Sterilisatio auch in Dosierungen, die im Bereich der Dos.tol.max. lagen, nicht erreicht werden (HOLZ und ADIWINATA, 1956; BHATTACHARYYA und SINHA, 1970; DENNIG, pers. Mitt.). Auch hier bewirkte die Behandlung keine parasitäre Heilung, sondern führte regelmäßig zu Rezidiven. Als weiteres Beispiel wären auch die Behandlungsversuche von HOLZ und ADIWINATA (1956) und BHATTACHARYYA und SINHA (1970) an Meerschweinchen anzuführen, die mit 100,0 bzw. 16,0 mg/kg Kgw. nur kurzfristige Heilungen mit parasitären Rückfällen erzielen konnten.

Chemoprophylaxe mit Berenil

Obwohl zunächst FUSSGÄNGER und BAUER (1958) aufgrund seiner raschen Elimination aus dem Organismus nur eine schwache prophylaktische Wirkung vermuteten, wiesen in der Folge verschiedene Autoren (VAN HOEVE und CUNNINGHAM, 1964; LUMSDEN et al., 1965; GILL, 1972; RAETHER et al., 1971, 1972, 1974; FINK und DANN, 1974) eine ausgeprägtere prophylaktische Wirksamkeit des Präparates nach. Am deutlichsten zeigten dies die Untersuchungen von VAN HOEVE und CUNNINGHAM (1964), die 3 Wochen nach Verabreichung von 7,0 mg/kg Kgw. Berenil im Serum behandelter Rinder eine trypanozide Wirkung des Mittels feststellten. Ebenso konnten LUMSDEN et al. (1965) eindeutige prophylaktische Eigenschaften gegen *T. brucei*-Infektionen bei der Maus nachweisen.

Auch meine Untersuchungen bestätigten, daß Berenil - in diesem Falle gegen *T. evansi* - eine prophylaktische Wirksamkeit aufweist. Einen völligen Schutz bewirkte Berenil in den hohen Dosierungen von 50,0 und 100,0 mg/kg Kgw. bei Infektionen von 8 bzw. 16 Tagen post appl.. Danach war die Schutzwirkung geringer, konnte jedoch eindeutig bis 52 Tage nachgewiesen werden. Allerdings drückte sich die prophylaktische Wirksamkeit zu diesem Zeitpunkt lediglich in einer Verzögerung des Krankheitsverlaufes aus, nicht aber in einer Verhinderung des tödlichen Ausgangs.

Aber nicht nur in diesen extrem hohen Dosierungen, die unter praktischen Verhältnissen kaum von Bedeutung sein dürften, zeigte sich eine chemoprophylaktische Wirksamkeit der Verbindung, sondern auch in den für Praxisbelange interessanten niedrigeren Dosierungen. So konnte mit der Dosis von 10,0 mg/kg Kgw., ein für Haustiere durchaus anwendbarer Dosierungsbereich, bei der Mehrzahl der Versuchstiere ein völliger Schutz bei Infektionen bis zu 4 Tagen post appl. und ein teilweiser Schutz bis zu 12 Tagen post appl. erzielt werden. Auch in den niedrigeren Dosierungen von 7,0 und 3,5 mg/kg Kgw. zeigte sich eine begrenzte prophylaktische Wirksamkeit.

Mein Versuchsergebnis findet eine Parallele in den Untersuchungen von GILL (1972), der ebenfalls eine prophylaktische Wirksamkeit von Berenil bei der *T. evansi*-Infektion der Ratte feststellte und bei der Dosis von 10,0 mg/kg Kgw. vergleichbare Resultate erhielt. Die in meinen Versuchen aufgezeigte, lang anhaltende prophylaktische Wirksamkeit von Berenil nach hoher Dosierung könnte von wissenschaftlichem Interesse sein. Für praktische Belange dürfte das Mittel in diesen Dosierungen kaum Bedeutung haben, da sie weit über die von Haustieren tolerierten Höchstdosen hinausgehen. Im Gegensatz hierzu könnte jedoch die prophylaktische Wirksamkeit in den niedrigeren Dosierungsbereichen auch praktische Anwendung finden. Weitere systematische Untersuchungen, insbesondere an Haustieren, sollten diese Frage klären.

Chemotherapie mit Trypamidium

Wie eingangs erwähnt, wird Trypamidium zur Behandlung von *T. congolense*- und *T. vivax*-Infektionen mit gutem Erfolg eingesetzt. Zur Therapie der *T. evansi*-Infektion liegen dagegen kaum Erfahrungen vor. In meinen Untersuchungen konnte selbst in der 100-fachen Dosierung der vom Hersteller zur Behandlung der *T. congolense*- und *T. vivax*-Infektionen bei Haustieren empfohlenen Menge von 50,0 mg/kg Kgw. nicht in allen Fällen eine Sterilisatio der Mäuse erreicht oder Rezidive mit tödlichem Ausgang verhindert werden. Weiterhin zeigte es sich, daß

der Wirkungseintritt von Trypamidium - verglichen mit Berenil - verzögert ist. Während bei Berenil selbst in geringster Dosierung schon 24 Stunden nach Applikation des Mittels eine parasitenfreie Phase erreicht wird, kommt es bei Trypamidium, je nach Dosierung, entweder zu einer nur kurzfristigen Stagnation der Parasitenvermehrung oder erst nach mehreren Tagen zu einem Verschwinden der Parasiten aus dem Blut.

Trypamidium hatte in geringer Dosierung kaum einen Effekt auf die *T. evansi*-Infektion der Maus. Ein Rückgang des Parasitenbefalls und ein vorübergehendes Verschwinden der Trypanosomen konnte erst mit der 10-fachen, vom Hersteller zur Behandlung der Nagana angegebenen Dosierung (5,0 mg/kg Kgw.) erreicht werden. Bei dieser, wie auch bei den folgenden höheren Dosierungen kam es, sofern keine parasitäre Heilung erzielt wurde, zu Rezidiven, die in der überwiegenden Zahl zum Tod führten. Nur ausnahmsweise bildete sich eine latente Infektionsform aus. Was die parasitären Heilungen betrifft, so besteht der Unterschied zu Berenil vor allen Dingen darin, daß diese bei Trypamidium zwar proportional der Höhe der Dosierung zunehmen, ohne jedoch ab einer bestimmten Dosierung mit Sicherheit aufzutreten. Leider steht für einen Vergleich dieser Untersuchungsergebnisse nur die Arbeit eines einzigen anderen Autoren zur Verfügung. So stellte GILL (1973) in seinen Versuchen an *T. evansi*-infizierten Ratten nach Verabreichung des homologen Präparates Samorin^R ebenfalls eine parasitenfreie Infektionsphase fest, die jedoch wesentlich kürzer als bei meinen Versuchen war. Dieser Unterschied dürfte wieder darauf zurückzuführen sein, daß GILL mit einer anderen Versuchstierart und einem anderen Parasitenstamm arbeitete.

Chemoprophylaxe mit Trypamidium

Neben der kurativen Wirksamkeit gegen *T. congolense*- und *T. vivax*-Infektionen bei Haustieren wird für Trypamidium auch eine prophylaktische Langzeitwirkung angegeben.

Meine Untersuchungen zeigten, daß diese auch gegenüber Infektionen mit *T. evansi* bei Mäusen besteht. Im Gegensatz zu Berenil, das insbesondere in höheren Dosierungen eine einheitliche und langfristige

prophylaktische Wirksamkeit aufwies, ist diese bei Trypamidium großen, offensichtlich von der individuellen Widerstandskraft der Versuchstiere abhängigen Schwankungen unterworfen. Dabei fällt auf, daß die chemoprophylaktische Schutzwirkung selbst nach hoher Dosierung schon nach 4 bis 8 Tagen nachläßt und Infektionsdurchbrüche mit tödlichem Verlauf auftreten können. Im Falle des Überlebens führte allerdings die prophylaktische Behandlung bei der Mehrzahl der Versuchstiere zur parasitären Heilung. Auch in diesem Punkt unterscheidet sich Trypamidium von Berenil, bei dessen Verwendung als Chemoprophylaktikum sich vorwiegend latente Infektionen ausbilden.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß Berenil und Trypamidium gegen Infektionen mit *T. evansi* bei Mäusen sowohl chemotherapeutisch als auch chemoprophylaktisch wirksam sind. Der Wirkungseintritt erfolgt bei Berenil, auch in niedriger Dosierung, schneller als bei Trypamidium. Parasitäre Heilungen können durch die Chemotherapie mit Berenil sicherer als mit Trypamidium erzielt werden. Was die chemoprophylaktische Wirksamkeit betrifft, so erstreckt sich diese bei Berenil über einen längeren Zeitraum als bei Trypamidium.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Die Arbeit befaßt sich mit Untersuchungen zur Chemotherapie und Chemoprophylaxe der Trypanosoma evansi-Infektion (Stamm Bali) bei der Maus mit Berenil^R (HOECHST) und Trypamidium^R (SPECIA).

Berenil

Die Verträglichkeit von Berenil ist selbst in der hohen Dosierung von 100 mg/kg Kgw. für Mäuse sehr gut.

Der chemotherapeutische Effekt wird entscheidend von der Höhe des Parasitenbefalls zum Zeitpunkt der Behandlung beeinflußt.

Berenil hat in der geringen Dosierung von 1,75 mg/kg Kgw. einen deutlichen kurativen Effekt, ohne tödlich verlaufende Rezidive zu verhindern. In den Dosierungen von 7,0 und 10,0 mg/kg Kgw. wird die akute Trypanosoma evansi-Infektion in latente, oder bei der Mehrzahl der Fälle, in Infektionen mit tödlich verlaufenden Rezidiven umgewandelt. Eine parasitäre Heilung wird bei Berenil ausnahmslos in den Dosierungen ab 15,0 mg/kg Kgw. bewirkt.

Die chemoprophylaktische Behandlung führt bei einem hohen Prozentsatz der Versuchstiere zur latenten Infektion. Die prophylaktische Wirksamkeit des Präparates beträgt, je nach Dosierung, bis zu 52 Tage.

Trypamidium

Die Verträglichkeit von Trypamidium ist bei Mäusen bis zur Dosis von 75,0 mg/kg Kgw. gut.

Trypamidium zeigt bei Dosierungen bis 1,0 mg/kg Kgw. eine begrenzte therapeutische Wirksamkeit. Bei Dosierungen bis zu 50,0 mg/kg Kgw. steigt die Anzahl parasitärer Heilungen proportional der Höhe der Dosierung. Eine Dosierung zur sicheren Erzielung einer Sterilisatio war nicht zu ermitteln.

Die chemoprophylaktische Wirksamkeit von Trypamidium ist bei der Maus großen Schwankungen unterworfen. Sie wurde 4-8 Tage post appl. nachgewiesen. Durchbrüche traten jedoch, selbst bei hoher Dosierung, verhältnismäßig häufig auf.

SUMMARY

CHEMOTHERAPY AND PROPHYLAXIS OF TRYPANOSOMA EVANSI-INFECTIONS (STRAIN BALI) IN MICE USING BERENIL^R AND TRYPAMIDIUM^R

Berenil

Berenil is very well tolerated by mice - even at high dose rates (100,0 mg/kg bw.).

The therapeutic effect decisively depends on the intensity of parasitemia at the moment of treatment.

Berenil shows a clear curative effect in low doses (1,75 mg/kg bw.). Relapses and death cannot be avoided, however, by these dose rates. Dosages of 7,0 and 10,0 mg/kg bw. may turn the acute infection into a latent one. These dosages are mostly followed by relapses and death. Treatment with doses of 15,0 mg/kg bw. and more cures the infection without exception.

The prophylactic effect lasts up to 52 days due to the dose rate.

The prophylactic treatment results mostly in latent infections.

Trypamidium

Trypamidium is tolerated well by mice - even up to 75,0 mg/kg bw.. Trypamidium shows in dosages up to 1,0 mg/kg bw. a limited therapeutic effect. The number of cures increases in accordance with the dose rates up to 50,0 mg/kg bw.. A definite curative dose could not be determined.

The prophylactic effect of Trypamidium fluctuated to a high degree. It could be demonstrated up to 8 days, but the protective effect frequently disappeared even with high dosage.

VI. LITERATURVERZEICHNIS

1. BANSAL, S.R., R.C. PATHAK (1968): Therapeutic efficacy of "Berenil" in experimental trypanosomiasis (Surra).
Ind. J. Anim. Health 7, 283-288
2. BAUER, F. (1955): Trypanosomen- und Babesienerkrankungen in Afrika und ihre Behandlung mit dem neuen Präparat "Berenil".
Ztschr. Tropenmed. Parasit. 6, 129-140
3. BHATTACHARYYA, U.K., P.K. SINHA (1970): Effect of Berenil in Trypanosoma evansi infection. Ind. Vet. J. 48, 541-543
4. CASTILLO, A.M., N.L. MOJICA (1962): Studies on surra. III. Treatment with Ganaseg.
Philipp. J. Anim. Industry 23, 25-30
5. DENNIG, H.K. (1977): Verlauf der Trypanosoma evansi-Infektion beim Kaninchen. Tropenmed. Parasit. 28, 279
6. FINELLE, P., R. LACOTTE (1963): Action trypanocide de deux sels d'isometamidium. Rev. Elev. Méd. Vét. Pays trop. 16, 405-411
7. FINELLE, P. (1973 a): African animal trypanosomiasis. Part I. Disease and chemotherapy.
World Animal Review 7, 1-6
8. FINELLE, P. (1973 b): African animal trypanosomiasis. Part II. Chemoprophylaxis and the raising of trypanotolerant livestock.
World Animal Review 8, 24-27
9. FINK, E., O. DANN (1974): Differences in the curative and prophylactic activity of diamidines against Tryp. congolense and Tryp. rhodesiense in mice due to different drug and parasite distribution.
Proc. 3rd Int. Congr. Parasit. München, 25.-31.8.74, 202-203
10. FUSSGÄNGER, R., F. BAUER (1958): Berenil ein neues Chemotherapeutikum in der Veterinärmedizin. Med. u. Chem. VI, 504-531
11. GILL, B.S., D.K. SEN (1964): Studies on surra. IV. Action of Berenil, Suramin and Quinpyramine on Trypanosoma evansi.
Ind. J. vet. Sci. 34 (3), 135-143
12. GILL, B.S., D.K. SEN (1971): Studies on surra. VI. Therapeutic activity of Mel B., diminazene and "Te 85" in the equine infection (Trypanosoma evansi).
Ind. J. Anim. Sci. 41 (8), 743-746
13. GILL, B.S. (1972): Studies on the chemoprophylaxis against surra (Trypanosoma evansi).
Ann. Soc. belge Med. trop. 52, 1, 33-44

14. GILL, B.S. (1973): Studies on surra. XI. Chemotherapeutic susceptibility of *Trypanosoma evansi*.
Ind. J. Anim. Sci. 43 (3), 226-229
15. HOEVE van, K., M.P. CUNNINGHAM (1964): Prophylactic activity of Berenil against trypanosomes in treated cattle.
Vet. Rec. 76, 260
16. HOLZ, J., R.T. ADIWINATA (1956): Experimentelle Untersuchungen über die Wirkung von "Berenil" auf *Trypanosoma evansi*. (Stamm Bogor 1948). Zbl. Vet. Med. 3, 605-611
17. LEACH, T.M. (1961): Observations on the treatment of *Trypanosoma evansi* infections in camels. J. Comp. Path. 71, 109-117
18. LUMSDEN, W.H.R., W.J. HERBERT, G.J.C. HARDY (1965): In vivo prophylactic activity of Berenil against trypanosomes in mice. Vet. Rec. 77, 147-148
19. MÜHLPFORDT, H. (1964): Die Generationsdauer verschiedener Trypanosomenarten.
Ztschr. Tropenmed. Parasit. 15, 145-153
20. NÖLLER, H.G. (1955): Die Blutentnahme aus dem retroorbitalen Venenplexus. Klin. Wschr. 33, 770-775
21. OPPONG, E.N.W. (1969): Toxicity of Berenil in the dog.
Vet. Rec. 85, 370
22. RAETHER, W., H. SEIDENATH (1971): Kurativer und prophylaktischer Effekt von Berenil nach oraler und subkutaner Verabreichung bei der experimentellen Trypanosomiasis (*T. rhodesiense*, *T. gambiense*). Ztschr. Tropenmed. Parasit. 22, 66-81
23. RAETHER, W., P. HAJDU, H. SEIDENATH, D. DAMM (1972): Pharmakokinetische und chemoprophylaktische Untersuchungen mit Berenil an Wistar-Ratten (*Trypanosoma rhodesiense*). Ztschr. Tropenmed. Parasit. 23, 418-427
24. RAETHER, W. (1973): Stand der Chemotherapie und Chemoprophylaxe in: Tsetse- und Trypanosomiasisbekämpfung.
Schriftenreihe d. Bundesstelle für Entwicklungshilfe, Nr. 8, 47-53
25. RAETHER, W., P. HAJDU, H. SEIDENATH, D. DAMM (1974): Pharmakokinetische und chemoprophylaktische Untersuchungen mit Berenil an Makaken (*T. rhodesiense*-Infektion). Tropenmed. Parasit. 25, 42-48
26. SCHÄRFL, M. (1977): Klinik, Serologie und Therapie der Trypanosoma evansi-Infektion (Stamm Bali) beim Goldhamster.
Vet. med. Diss. München
27. TOURE, S.M. (1973): Les trypanocides et leur utilisation en médecine vétérinaire.
Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop. 26 (4), 113a-122a
28. VERMA, B.B., O.P. GAUTAM, P.D. MALIK (1973): Diminazine acetate in the treatment of experimental *Trypanosoma evansi* infection in buffalo calves. Vet. Rec. 93, 465-467

29. VERMA, B.B., O.P. GAUTAM, P.D. MALIK (1976): *Trypanosoma evansi*: Therapeutic efficacy of diminazine acetate in crossbred calves, *Bos taurus* and *Bos indicus*.
Expl Parasit. 40, 406-410
30. WILLIAMSON, J. (1962): Chemotherapy and chemoprophylaxis of African trypanosomiasis. Expl Parasit. 12, 274-322
31. WILLIAMSON, J. (1970): Review of chemotherapeutic and chemoprophylactic agents. In "The African Trypanosomiasis" (ed. H.W. Mulligan) Ch. 7, London, G. Allen & Unwin.
32. WILLIAMSON, J. (1976): Chemotherapy of African trypanosomiasis
Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 70, 117-119

LEBENS LAUF

Am 16. Mai 1951 wurde ich, Josef Harant, als zweites Kind des Straßenwärters Wenzl Harant und seiner Ehefrau Hedwig, geb. Strunz, in Iggenbach, Landkreis Deggendorf, geboren.

Nach Besuch der Volksschule in Iggenbach wechselte ich im September 1962 in das Gymnasium Leopoldinum in Passau über, wo ich 1971 die Reifeprüfung ablegte.

Im Wintersemester 1971/72 begann ich am Fachbereich Tiermedizin der Ludwig-Maximilians-Universität München mit dem Studium der Veterinärmedizin. Am 30. November 1976 bestand ich dort das Staatsexamen. Die Approbation als Tierarzt erhielt ich am 18. Januar 1977.

An dieser Stelle möchte ich dem Vorstand des Institutes,
Herrn Professor Dr. Dr. h.c. J. Boch, für die Möglichkeit
zur Durchführung meiner Arbeit danken.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr. H.K. Dennig
für die Überlassung des Themas und seine jederzeit gern
gewährte Anleitung und Unterstützung bei der Anfertigung
meiner Arbeit.

Weiterhin danke ich Fräulein D. Denk für ihre bereitwillige
Hilfe bei technischen Fragen.

